

난소종양 환자에서 유세포분석을 통한 DNA 정량검사의 예후적 의의

연세대학교 의과대학 산부인과학교실
이종승 · 김영태 · 김재욱 · 박기현 · 김성훈

=ABSTRACT=

Prognostic Significance of Flow Cytometric Nuclear DNA Quantification in Ovarian Tumors

Chong Seung Lee, M.D., Young Tae Kim, M.D., Jae Wook Kim, M.D.,
Ki Hyun Park, M.D., Sung Hoon Kim, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Objective : The aim of this study was to investigate the relationship of DNA ploidy, SPF to other surgicopathologic factors including stage, grade and CA-125 in ovarian cancer and to evaluate the association between CA-125, DNA ploidy, SPF and 2-year survival in ovarian cancer.

Methods : The study was prospective, which included 56 patients with ovarian tumors who were treated at the Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine from Feb. 2000 to Jan. 2003. There were 7 benign tumors, 9 borderline tumors and 40 malignant tumors. All patients underwent surgical operation for fresh tissue. All specimens for histopathologic grading and stage were classified according to WHO criteria and FIGO stage. DNA ploidy groups were divided into two groups, diploidy and aneuploidy. DNA ploidy and S-phase fraction (SPF) were analyzed by flow cytometry in fresh surgical specimens from primary ovarian tumor. CA-125 was measured at diagnosis and after 6th courses of chemotherapy.

Results : Of the Benign tumors, 85.7% were diploidy, 14.3% were aneuploidy. Of the borderline tumors, 88.9% were diploidy, 11.1% were aneuploidy, 60.0% of malignant tumors were diploidy, 40.0% were aneuploidy. In relation between grade and DNA quantification, grade was not significantly associated with DNA ploidy ($p=0.07$), SPF ($p=0.08$). In the relationship of stage to DNA quantification, aneuploidy was associated with advanced stage ($p=0.2$), mean value of SPF was significantly high in advanced stage (stage III+IV) ($p=0.04$). In the DNA ploidy and SPF, mean value of SPF was $5.5 \pm 4.6\%$ in diploidy and $13.6 \pm 12.8\%$ in aneuploidy. The difference was significant ($p=0.03$). The serum CA-125 level after six courses was divided into two groups with a $CA-125 \leq 35$ U/mL and a $CA-125 > 35$ U/mL, aneuploidy and mean value of SPF were increased significantly in $CA-125 > 35$ U/mL ($p=0.05$, 0.04). In 2-year survival, $CA-125 > 35$ U/mL, aneuploidy and $SPF > 10\%$ were poor prognostic parameters.

Conclusion : CA-125 is an important prognostic factor in ovarian cancer. Our results were consistent with the concept that aneuploidy or high percentage of SPF could predict the poor prognosis of disease course. The flow cytometric DNA quantification in ovarian cancer may provide major information about tumor prognosis.

Key Words : DNA flow cytometry, Ploidy, S-phase fraction, CA-125

난소암은 현재까지 부인암에 있어서 중요한 사망원인
의 하나로 알려져 있다. 외과적 수술과 보조항암화학요

법 등의 여러 치료법들이 시행되어오고 있으나 여전히
완치가 힘든 상태이며 진행성 난소암 환자의 대부분은

불량한 예후를 나타내고 있다.

여러 연구들을 통해서 난소암의 예후인자로 알려진 것들에는 여러 가지가 있지만 이들 중 중요시되는 것들이 병기 (stage), 조직학적 분화도 (histologic grade), 혈청 내 CA-125 수치, 잔류암의 크기 (residual tumor size) 등이다.¹ 현재까지 난소암 영역에서 예후인자로 가장 많이 연구가 이루어진 중요한 지표는 CA-125이다.² Rustin 등은 CA-125는 난소암의 진행정도, 치료에 대한 반응 그리고 재발에 대한 유용한 지표라고 보고한 바 있다.³ 또한 다른 보고에 의하면 난소암의 추적관찰에 있어 CA-125가 예민도 86%, 특이도 90%, 양성예측도 100%, 음성예측도 56%라고 발표된 바 있다.^{4,5} 다른 연구가들은 혈청 내 CA-125의 반감기를 이용한다거나, scoring system을 이용하여 prognostic score index를 구한다거나, 아니면 3회의 보조항암화학요법 시행 후 CA-125를 측정함으로써 예후를 예측해 왔다.^{6,8} 이렇듯 여러 다른 측면에서 난소암의 예후인자로서의 CA-125에 대한 연구는 활발히 진행되어 왔다.

그러나 이와 다른 측면에서 여러 연구자들은 예후인자로서 종양세포 자체를 분석하기 시작하였다. 그래서 '종양세포는 증식능이 크다'라는 전제하에 종양세포의 증식능을 측정하기 위해 정량검사를 시행하였다.^{9,10} Garcia 등은 종양세포의 증식세포 정량검사를 통해 종양세포의 악성능을 측정한 바 있다.¹¹ 이런 방법들로는 [³H]-thymidine 자가방사기록법, Halo-pyrimidine bromodeoxyuridine (BrdU)을 투여하여 측정하는 법, Ag-NOR수를 측정하는 법, Ki-67 항체 또는 증식세포핵항원 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)을 이용한 면역조직화학염색법, DNA 유세포분석법 (flow cytometry) 등이 있으며 이런 여러 방법들을 통해 종양세포의 증식능에 대한 정량화가 시도되어 왔다.¹²⁻¹⁵

최근에 이 중에서 유세포분석법을 통한 DNA 정량검사에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. Volm 등은 37예의 난소암 환자의 생검조직을 이용해 유세포분석법을 통한 DNA 정량검사를 시행하여 이배수성 (diploidy) 종양에 비해 비배수성 (aneuploidy) 종양에서 5년 생존율이 불량하고, 따라서 유세포분석법을 통한 DNA 정량검사가 난소암의 중요한 예후인자라고 발표한 바 있다.¹⁶ 또한 Friedlander 등은 비배수성 종양이 이배수성 종양에 비해 예후가 불량하다고 보고한 바 있다.¹⁷ 그러나 이에 반해 DNA 배수성과 예후가 무관하다고 발표된 연구도 있었다.¹⁸ Meyer 등은 유세포분석법을 통해 얻어진 세포주기 중 합성기의 한 분획인 합성기 분율 (S-phase fraction, SPF)을 측정하는 것이 세포의 증식능을 규명하는데 가장 자세한 방법이라고 밝힌 바 있다.¹⁹

그러므로 본 연구에서는 먼저 난소암으로 진단받은 환자에 있어서 DNA 배수성, 합성기 분율과 임상적 예후인자들인 병기, 분화도, CA-125와의 관계를 조사하고, CA-125, DNA 배수성 및 합성기 분율의 2년 생존율을 조사하여 혈청내 CA-125 값과 DNA 배수성 및 합성기 분율의 예후적 의의에 대해 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 환자군

연세대학교 의과대학 산부인과학 교실에서 2000년 2월부터 2003년 1월까지 난소종양으로 진단받은 56예를 대상으로 한 전향적인 연구를 시행하였다. 이 중에서 양성 난소종양이 7예, 경계성 난소암이 9예이었고, 악성 난소암이 40예였다. 양성 종양과 경계성 난소암의 경우 일차적으로 개복술을 시행하여 병변을 제거하였고, 난소암으로 진단된 모든 환자에서는 병기결정을 위한 개복술을 시행하였으며, 수술 후 보조항암화학요법 (Taxol 135 mg/m² plus carboplatin AUC 4-5)이 6회에 걸쳐 시행되었다.

2. 병리조직검사

세포형태, 조직학적 분화도와 병기에 있어서는 WHO criteria와 FIGO 병기에 따라 분류되었다. 조직학적 분화도는 grade 1은 고형성 부분이 5% 미만인 경우로 하였고, grade 2는 고형성 부분이 5% 이상 50% 미만인 경우로 하였으며, grade 3는 고형성 부분이 50% 이상인 경우로 하였다.²⁰

3. DNA 유세포분석법

DNA 유세포분석을 위해 일차적 개복술을 통해 얻은 신선조직 (fresh tissue)을 이용하였다. 검체는 0.2 g의 조직을 -70℃에서 냉장보관하였고, Vindelov's technique을 이용하여 검체를 고정하였으며 각각 25,000개의 세포를 검사하였다.^{21,22} DNA 배수성 및 합성기 분율은 Phenix flow system을 통해 산출되었다. DNA histogram 상에서 서로 다른 G0/G1 peak가 2개 이상 나타나며 peak를 구성하는 세포의 최소 10%가 aneuploid cells일 때를 비배수성으로 정의하였다. 변이계수 (coefficient of variation)는 5% 이내인 histogram을 적합한 것으로 판정하였다. DNA index (DI) 값은 정상조직의 DNA 함량에 대한 검체조직의 DNA 함량의 비로 0.96-1.04일 때를 이배수성으로 정의하였고 이 기준에서 제외되는 검체는 비배수성으로 정의하였다 (Fig. 1).

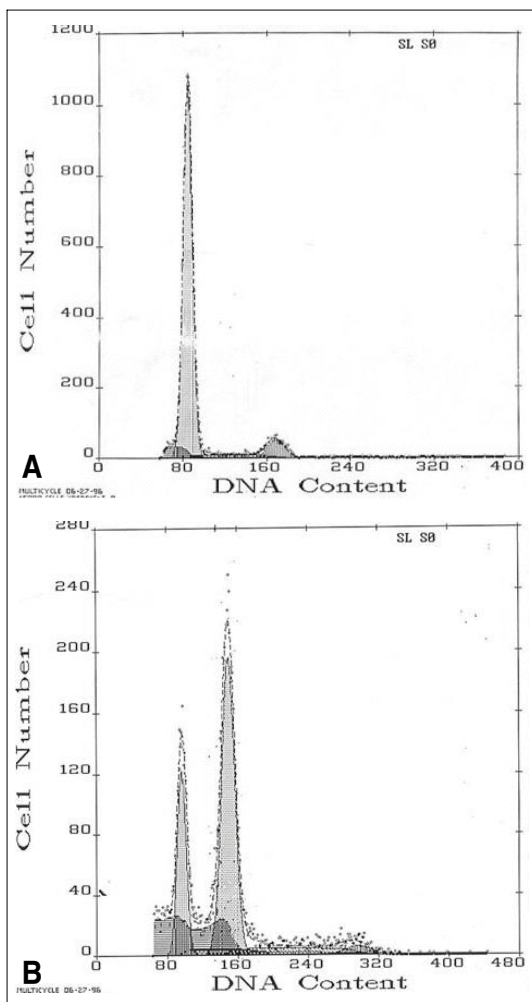


Fig. 1. DNA histograms analysed by flow-cytometry.

A: Diploidy, DI=0.96-1.04.

B: Aneuploidy, DI<0.96, >1.04.

4. CA-125

혈청 CA-125 값은 진단 당시와 6회의 보조항암화학요법 시행 후 각각 측정되었다. 각각의 CA-125 값은 방사면역측정법을 통해 산출되었다. 정상범위는 35 U/mL 이하로 하였다. 6회의 보조항암화학요법 시행 후 측정된 CA-125 값은 35 U/mL를 기준으로 CA-125 값이 35 U/mL 이상인 군과 이하인 군으로 분류하였다.

5. 자료 분석

자료분석은 two sample t-test, chi-square test와 ANOVA (analysis of variance) test를 이용해 통계처리하였고, 통계분석은 SPSS (version 11.0)을 이용하였다. 생존곡선은 Kaplan-Meier method를 이용하였다. p value<0.05인 경우

를 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

56예의 난소종양 중 7예의 양성 난소종양, 9예의 경계성 난소암, 40예의 악성 난소암에서의 이배수성 종양의 비율은 양성 난소종양과 경계성 난소암에서는 각각 14.3%, 11.1%에 해당하였으나 악성 난소암에서는 무려 40%가 이배수성 종양이었다 (Table 1).

Table 1. DNA ploidy of 56 benign, borderline and malignant ovarian tumors

Type	Aneuploidy	(%)	Total No.
Benign	1	14.3	7
Borderline	1	11.1	9
Malignant	16	40.0	40

40예의 악성 난소암 환자들의 임상적 특징에 있어서 전체 환자의 연령은 19세에서 72세 범위였고 median age는 46세였다. 조직병리상 장액성 (serous type)이 60%로 제일 많았고, 분화도에서는 grade 3이 60.0%였고, 병기에서는 각각 I기와 II기를 합쳐 초기 병기 (early stage), III기와 IV기를 합쳐 진행된 병기 (advanced stage)로 분류하였을 때, 진행된 병기가 60% 이상을 차지하였다. 잔류암에 있어서도 2 cm 이상인 군이 30%에 해당하였다 (Table 2).

Table 2. Clinical characteristics in malignant ovarian cancer

	No.	%
Age (years)		
Median	46	
Range	19-72	
Histopathology		
Serous	24	60
Mucinous	7	17.5
Endometrioid	1	2.5
Clear cell	1	2.5
Undifferentiated	7	17.5
Grade		
1	5	12.5
2	11	27.5
3	24	60.0
Stage		
Early (I+II)	15	37.5
Advanced (III+IV)	25	62.5
Residuum		
<2 cm	28	70.0
≥2 cm	12	30.0

DNA 배수성과 임상적 예후인자들 간의 상관관계에서는, 통계적으로 유의하진 않지만 분화도가 증가할수록, 그리고 진행된 병기에서 이배수성 종양이 많음을 보였다 ($p=0.07, 0.2$). 그리고 6회의 보조항암화학요법 시행 후 측정된 CA-125 값이 35 U/mL 보다 큰 군에서 비배수성 종양이 많았다 ($p=0.05$, Table 3).

Table 3. Correlation between clinical prognostic factors and DNA ploidy

	Diploidy		Aneuploidy		<i>p</i> value
	N	(%)	N	(%)	
Grade					
1	4	75.0	1	25.0	0.07
2	7	63.6	4	36.4	
3	11	45.8	13	54.2	
Stage					
Early (I+II)	9	60.0	6	40.0	0.2
Advanced (III+IV)	10	40.0	15	60.0	
CA-125 (U/mL)					
≤35	17	65.4	9	34.6	0.05
>35	3	21.4	11	78.6	

합성기 분율과 임상적 예후인자들 간의 상관관계에서는, 분화도가 증가할수록 통계적 유의성은 없지만 합성기 분율이 증가함을 알 수 있었고 ($p=0.08$), 진행된 병기에서 합성기 분율이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다 ($p=0.04$). 6회의 보조항암화학요법 시행 후 측정된 CA-125 값이 35 U/mL보다 큰 군에서 합성기 분율이 높게 나타났으며 이는 통계적으로 유의하였다 ($p=0.04$, Table 4).

Table 4. Correlation between clinical prognostic factors and SPF

	SPF (%)	<i>p</i> value
Grade		
1	2.6 (±2.2)	0.08
2	6.5 (±5.7)	
3	9.1 (±7.7)	
Stage		
Early (I+II)	9.7 (±6.4)	0.04
Advanced (III+IV)	17.2 (±6.6)	
CA-125 (U/mL)		
≤35	6.9 (±5.4)	0.04
>35	13.8 (±9.9)	

배수성과 합성기 분율의 상관관계에서는 비배수성 종양에서 합성기 분율이 유의하게 높게 나타났다 ($p=0.03$, Fig. 2).

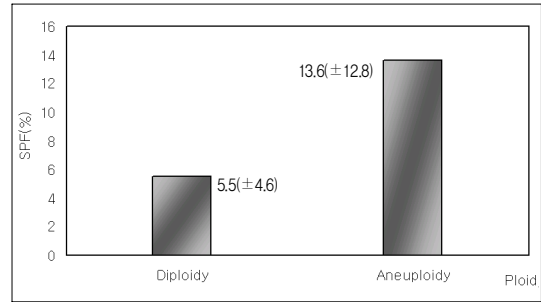


Fig. 2. SPF according to DNA ploidy ($p=0.03$).

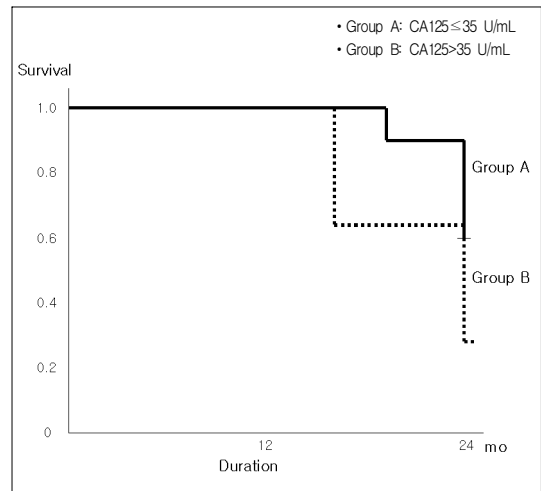


Fig. 3. Kaplan-Meier survival curve according to CA-125 after 6th course postoperative adjuvant chemotherapy ($p=0.06$).

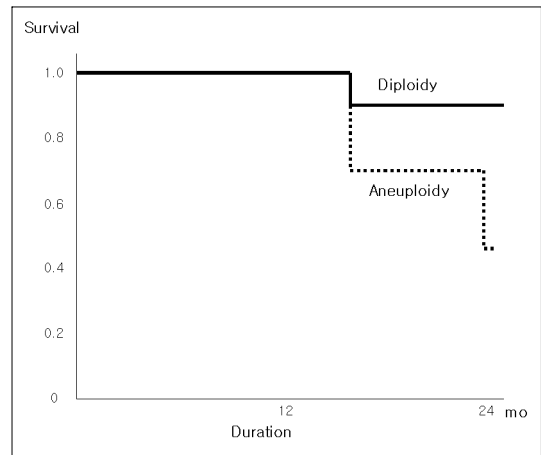


Fig. 4. Kaplan-Meier survival curve according to DNA ploidy ($p=0.03$).

2년 생존율에 있어서 CA-125>35 U/mL인 군에서 CA-125≤35 U/mL인 군보다 생존율이 불량함을 보였고 ($p=0.06$), 비배수성 종양에서 이배수성 종양에 비해 생존율이 불량함을 보였으며 ($p=0.03$), 합성기 분율>10%에서 합성기 분율≤10%보다 생존율이 불량함을 보였 다 ($p=0.04$, Fig. 4-6).

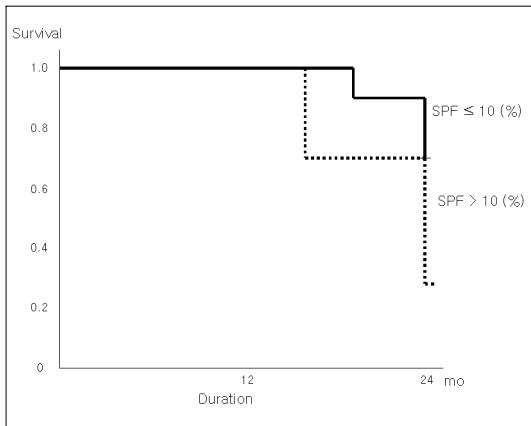


Fig. 5. Kaplan-Meier survival curve according to SPF ($p=0.04$).

고 찰

난소암은 보건복지부에서 시행한 한국중앙 암 등록사업 연례보고서에 의하면, 2001년 여성 10대 암 중에 하나이며,²³ 현재까지 부인암에 있어서는 중요한 사망원인의 하나이다. 난소암 환자의 대부분은 증상이 없어 진단 당시 이미 진행된 소견을 보이는 예가 많다. 치료로는 표준적 치료방법으로 일차적으로 병기결정 및 진행된 환자에서 수술로 암세포를 줄이는 종양감축술 (debulking surgery)의 의미로 수술을 시행하며, 수술 후 보조항암화학요법의 치료법이 시행되어 오고 있으나 여전히 치료가 힘들고 재발이 잘 되는 질환으로 알려져 있다.

난소암의 예후 예측은 치료방침을 결정하는데 중요한 역할을 하는데, 이런 예후인자로 알려진 것들로는 병기, 조직학적 분화도, 혈청내 CA-125 수치, 잔류암의 크기 등이 있다.^{24,25} 이런 예후인자들이 알려지는 있으나 이러한 인자들과 더불어 좀 더 객관적인 예후에 대한 예측방법의 필요성이 대두하게 되었으며 종양세포의 증식능을 측정하는 것이 악성능을 예측할 수 있는 객관적인 방법이라는 연구가 보고되었다. 이런 이유로 종양세포의 증식능의 정량화에 대한 다양한 연구가 시도되었다.

이 중에서 특히 유세포분석을 통한 DNA 정량검사가 많이 보고되고 있는데, 유세포분석은 면역조직학적 방법

들과는 달리 단시간에 많은 수의 세포정보를 처리할 수 있고 정량적인 분석이 가능하며 샘플조직이나 파라핀 고정조직을 이용하여 세포주기에 따른 DNA 정량분석과 배수성을 빠르고 정확하게 분석할 수 있다.²⁶ 그리고 그동안의 연구들에 의하면 비배수성 종양이 이배수성 종양에 비해 분화도와 병기가 더 높고 좀 더 불량한 임상 결과를 보이는 것으로 보고되고 있다.^{27,28} 본 연구에서도 양성 난소종양 7예 중 1예가, 경계성 난소암 9예 중 1예가 비배수성 종양이었으나, 악성 난소암 40예 중에선 16예가 비배수성 종양으로 무려 40%에 해당하였으며 보고된 결과들과 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 악성 난소암 중에서도 이배수성 종양에 비해 비배수성 종양에서 분화도와 병기가 진행된 것으로 나타났고 2년 생존율 또한 불량했다.

Strang 등은 종양의 배수성과 합성기 분율과의 관계에서 이배수성 종양에서 비배수성 종양에 비해 합성기 분율이 낮다고 보고한 바 있으며, 합성기 분율을 측정함으로써 같은 병기와 배수성에서도 다시 종양을 세분화 (subclassification) 할 수 있다고 보고한 바 있다.²⁹ 본 연구에서도 비배수성 종양에서 이배수성 종양에 비해 합성기 분율이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다.

유세포분석법을 통한 합성기 분율 측정은 증식하는 세포의 부분을 인지하는 좀 더 정밀한 방법으로, 일반적으로 종양에서 합성기 분율이 높으면 종양의 공격능 (aggressiveness)이 증가한다고 보고되고 있다.³⁰ Friedlander 등은 난소암에서 이배수성 종양에 비해 비배수성 종양에서 높은 합성기 분율을 보인다고 하였고,²⁷ 합성기 분율은 난소암뿐만 아니라 유방암, 대장암, 폐암 등의 많은 고형암에서도 유용한 예후인자로 알려져 있다.^{31,32} 본 연구 결과에서 분화도가 높을수록, 진행된 병기에서 합성기 분율이 크게 나타났고 합성기 분율>10%에서 2년 생존율 또한 불량하였다. 이런 결과에서 볼 때, 분화도와 병기가 높을수록 예후가 불량하므로, 비배수성 종양일수록 그리고 합성기 분율이 높을수록 예후가 불량함을 예측할 수 있다.

CA-125가 난소암에서 진행정도, 치료에 대한 반응 그리고 재발에 대한 유용한 예후인자라는 점을 생각할 때,⁴ 6회의 보조항암화학요법 시행 후 측정된 CA-125 수치가 35 U/mL 이상인 그룹에서 비배수성 종양이 많고 합성기 분율이 유의하게 높았다는 것은, 비배수성 종양이거나 또는 합성기 분율이 높을수록 보조항암화학요법에 대한 치료반응이 나쁘고 재발빈도가 높고 예후가 불량할 것이라고 예측할 수 있다.

현재까지 난소암에서 유세포분석법을 이용한 DNA 배수성과 임상적 예후인자들간의 관계를 보고한 많은 연구들이 있었으나 이들은 대부분이 과거의 파라핀 포매조직 (paraffin-embedded tissue)을 이용한 연구였었다.

Hedley 등은 파라핀 고정조직을 이용한 유세포분석법을 보고하였고,³³ Schutte 등은 파라핀 포매조직과 신선조직에서의 유세포분석 결과가 동일하다고 발표한 바 있다.³⁴ 그 후 파라핀 포매 조직을 이용한 연구가 활발히 진행되었다. 그러나 Stephenson 등은 파라핀 포매조직으로 얻어진 DNA histogram의 질 (quality)은 신선조직의 그것보다 못한 것으로 보고한 바 있고,³⁵ Jacobsen 등과 Deitch 등은 파라핀 포매조직을 이용한 경우 diploid peak의 변이계수가 높게 나타나게 되고, aneuploid peak에서는 나머지 절편들에 의해 작고 불분명하게 나타나며, 따라서 정확도가 신선조직에 비해 떨어지게 된다고 보고하였다.^{36,37} Volm 등은 37예의 난소암 환자의 신선조직을 이용해 유세포 분석법을 통한 DNA 정량검사를 시행한 바 있고,¹⁷ Nyvang 등도 41예의 난소암 환자의 신선조직을 가지고 CA-125, 조직학적 분화도 및 DNA index의 상관관계를 조사한 바 있다.³⁸ 이렇듯 소수의 연구자들을 제외하고는 신선조직을 이용한 예는 거의 보고된 바가 없다. 그러나 본 연구에서는 다른 대다수의 연구들과 달리 56예 모두에서 신선조직을 사용하였다.

본 연구에서 생존율에 대한 추적관찰 기간이 2년으로 비교적 길지 않았다. 이것은 신선조직에 의한 연구였는데 그 이유가 있을 수 있다. Owainati 등이나 Hedley 등은 DNA 배수성에 관계없이 수술 후 2년과 3년까지는 생존율의 차이가 없다고 보고한 바 있다.^{39,40} 이런 측면에서 볼 때, 본 연구에서도 환자들의 5년 생존율과 상관 지을 수 있을 것으로 생각된다.

결론적으로, 위의 결과들을 종합할 때 난소암 환자에서 유세포분석법을 통한 DNA 정량검사를 시행해서 DNA 배수성 여부와 합성기 분율을 측정하는 것은 예후를 예측하는데 있어 중요한 임상정보를 제공해 줄 수 있을 것으로 사료된다.

- 참고문헌 -

- Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Semin Surg Oncol* 2000; 19(1): 3-10.
- Lavin PT, Knapp RC, Malkasian G, Whitney CW, Berek JC Jr. CA-125 for the monitoring of ovarian carcinoma during primary therapy. *Obstet Gynecol* 1984; 69: 223-7.
- Rustin GJS, Nelstrop AE, Tuxen MK, Lambert HE. Defining progression of ovarian carcinoma during follow-up according to CA-125: a North Thames Ovary Group Study. *Ann Oncol* 1996; 7: 361.
- Zanaboni F, Vergadoro F, Presti M, Gallotti P, Lombardi F, Bolis G. Tumor antigen CA-125 as a marker of ovarian epithelial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1987; 28: 61-7.
- Berek JS, Knapp RC, Malkasian GD. CA-125 serum levels correlated with second-look operations among ovarian cancer patients. *Obstet Gynecol* 1986; 7: 685-9.
- Van der Burg ME, Lammes FB, van Putten W, Stoter G. Ovarian cancer: the prognostic value of the serum half-life of CA-125 during induction chemotherapy. *Gynecol Oncol* 1988; 30: 307-12.
- Rosen A, Sevelad P, Klein M, Beck A. A CA-125 score as a prognostic index in patients with ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet* 1990; 247: 125-9.
- Mogensen O. Prognostic value of CA-125 in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1992; 44: 207-12.
- Barlogie B, Drewinko B, Schumann J. Cellular DNA content as a marker of neoplasia in man. *Am J Med* 1980; 69: 195-203.
- Merkel DE, Dressler LG, McGuire WL. Flow cytometry, cellular DNA content, and prognosis in human malignancy. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1690-703.
- Garcia RL, Gown AM. Analysis of proliferative grade using anti PCNA/cyclin monoclonal antibodies in formalin fixed, paraffin embedded tissues, comparison with flow cytometric analysis. *Am J Pathol* 1989; 134: 733-9.
- Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijzer R, Velde CJH, Cornlisse CJ. Cell cycle related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1991; 138: 1165-72.
- Dervan PA, Magee HM, Carney DN. Proliferating cell nuclear antigen counts in formalin-fixed paraffin-embedded tissues correlate with Ki-67 in fresh tissue. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 21-8.
- Huettnner PC, Weinberg DS, Lage JM. Assessment of proliferative activity in ovarian neoplasms by flow and static cytometry. *Am J Pathol* 1992; 141: 699-706.
- Yu CCW, Woods AL, Levison DA. The assessment of cellular proliferation by immunocytochemistry: a review of currently available methods and their applications. *Histochemical J* 1992; 24: 121-31.
- Volm M, Kleine W, Pfeleiderer A. Flow-cytometric prognostic factors for the survival of patients with ovarian carcinoma: A 5-year follow-up study. *Gynecol Oncol* 1989; 35: 84-9.
- Friedlander ML, Heldey DW, Swanson C. Prediction of long-term survivals by flow cytometric analysis of cellular DNA content in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1988; 6: 282-90.
- Rice LW, Mark SD, Berkowitz RS, Goff BA, Lage JM. Clinicopathologic variables, operative characteristics, and DNA ploidy in predicting outcome in ovarian epithelial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 379-85.
- Meyer JS, Gorsell DJ, Yim S. Cell proliferation in ovarian carcinoma: superior accuracy of S-phase fraction(SPF) by DNA labeling index versus flow cytometric SPF, lack of independent prognostic power for SPF and DNA ploidy, and limited effect of SPF on tumor growth rate. *Gynecol Oncol* 2001; 81: 466-76.
- Serov F, Scully RE, Solbin LE. Histologic typing of ovarian tumors. In: International Classification of Tumors. Geneva: World Health Organization, 1973.
- Vieth P. Flowcytometry. Igaku-shoin medical publishers, Inc 1991; 21-51.
- Rose NR, Marcario ECD, Fahey JL, Frenzman H, Penn GM. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 5th ed, ASM 1997; 255-61.
- 보건복지부 한국중앙 암등록본부. 한국중앙 암등록사업 연례보고서. 2003
- Omura GA, Brady MF, Homesley HD, Yordan E, Major FJ, Buchsbaum HJ, et al. Long-term follow-up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: the Gynecologic Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1991; 9(7): 1138-50.
- Baak JP, Chan KK, Stolk JG, Kenemans P. Prognostic factors in borderline and invasive ovarian tumors of the common epithelial type. *Pathol Res Pract* 1987; 182(6): 755-74.
- Barlogie B, Raber MN, Schumann J. Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer Res* 1983; 43: 3982-9.
- Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW, Russel P, Coates AS, Tattersall MHN. Influence of cellular DNA content on survival in advanced ovarian cancer. *Cancer Res* 1984; 44: 397-400.
- Rutgers DH, Wils IS, Schaap AHP, van Lindert ACM. DNA flow cytometry, histological grade, stage, and age as prognostic factors in human epithelial ovarian carcinomas. *Path Res Pract* 1987; 182: 207-13.
- Strang P, Stendahl U, Sorbe B. Polyclonal cervical tumors detected by flow cytometry. *Anticancer Res* 1986; 6: 171-6.
- Hansson J, Tribukalt B, Lewensohn R, Ringborg U. Flow cytofluorometric analyses of metastases of human malignant melanomas. *Anal Quant Cytol* 1982; 4: 99-104.
- Meyer JS, Coplin MD. Thymidine labeling index, flow cytometric S-phase measurement, and DNA index in human tumors: comparisons and correlations. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 586-95.
- Merkel DE, McGuire WL. Ploidy, proliferative activity and prognosis:

- DNA flow cytometry of solid tumors. Cancer 1990; 65: 1194-205.
33. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove EA. Method for analysis of cellular DNA content to paraffin embedded pathological material using flow cytometry. J Histochem Cytochem 1983; 31: 1333-6.
 34. Schutte B, Reyners MM, Bosman FT. Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin embedded tissue. Cytometry 1985; 6: 26-30.
 35. Stephenson RA, Gay H, Fair WR, Melamed MR. Effect of section thickness on quality of flow cytometric DNA content determinations in paraffin-embedded tissue. Cytometry 1986; 7: 41-4.
 36. Jacobsen AB, Fossa SD, Thorud E. DNA flow cytometric values in bladder carcinoma biopsies obtained from fresh and paraffin-embedded material. APMIS 1988; 96: 25-9.
 37. Deitch AD, White RDV, Madewell BR. False DNA aneuploidy in canine and human neoplasms. Anticancer Res 1993; 13: 2117-8.
 38. Nyvang GB, Mogensen O, Bichel P, Jakobsen A. Combined prognostic importance of CA-125, histopathologic grade and DNA index in advanced ovarian cancer. Eur J Gynecol Oncol 2000; 6: 392.
 39. Owainati AAR, Robins RA, Hinton C, Ellis IO, Dowle CS, Ferry B, et al. Tumor aneuploidy, prognostic parameters and survival in primary breast cancer. Brit J Cancer 1987; 55: 449-54.
 40. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW. Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. Cytometry 1985; 6(4): 327-33.

=국문초록=

목적 : 본 연구의 목적은 난소암으로 진단받은 환자에 있어서 DNA 배수성, 합성기 분율 (S-phase fraction) 과 임상적 예후인자들인 병기 (stage), 분화도 (grade), CA-125와의 관계를 조사하고, CA-125, DNA 배수성 및 합성기 분율의 2년 생존율을 조사하여 혈청내 CA-125값과 DNA 배수성 및 합성기 분율의 상호연관성을 밝힘으로서 예후를 예측하고자 하는 것이다.

연구 방법 : 2000년 2월부터 2003년 1월까지 연세대학교 의과대학 산부인과학교실에서 진단받은 난소종양 56예를 대상으로 전향적으로 연구를 진행하였다. 양성 난소종양이 7예, 경계성 난소암이 9예, 악성 난소암이 40예였다. 난소암으로 진단받은 모든 예에서 병기결정을 위한 시험적 개복술 및 보조항암화학요법을 시행받았으며, CA-125는 6회의 보조항암화학요법 시행 후 측정하였다. DNA 배수성은 이배수성 (diploidy) 종양과 비배수성 (aneuploidy) 종양으로 구분하였고, DNA 배수성 및 합성기 분율 값은 병기결정을 위한 시험적 개복술시 생검을 통해 얻은 조직을 유세포분석법 (flow cytometry)을 이용해 분석하였다.

결과 : 양성 난소종양 7예 중 1예가 비배수성 종양 (14.3%)이었고, 경계성 난소암 9예 중 1예가 비배수성 종양 (11.1%)이었다. 악성 난소암 40예 중 예선 16예가 비배수성 종양 (40%)이었다. 분화도와 DNA 정량검사의 상관관계에서 볼 때, 분화도가 증가할수록 통계적으로 유의하진 않지만 비배수성 종양과 합성기 분율이 증가함을 알 수 있다 ($p=0.07, 0.08$). 병기와 DNA 정량검사의 상관관계에서 볼 때, 병기 각각 I기와 II기를 합쳐 초기 병기 (early stage), III기와 IV기를 합쳐 진행된 병기 (advanced stage)로 분류하였고, 통계적으로 유의하진 않으나 진행된 병기에서 비배수성 종양이 많음을 알 수 있다 ($p=0.2$). 또한 진행된 병기에서 합성기 분율이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다 ($p=0.04$). 배수성과 합성기 분율의 상관관계에서는 비배수성 종양에서 합성기 분율이 유의하게 높게 나타났다 ($p=0.03$). CA-125와 DNA 정량검사의 상관관계에서, CA-125는 35 U/mL를 기준으로 두 군으로 구분하였다. 6회의 보조항암화학요법 시행 후 측정된 CA-125 값이 35 U/mL보다 큰 군에서 비배수성 종양이 많았고, 합성기 분율이 높게 나타났으며 이는 통계적으로 유의하였다 ($p=0.05, 0.04$). 2년 생존율에 있어서 CA-125>35 U/mL, 비배수성 종양 그리고 합성기 분율>10%에서 생존율이 불량함을 보였다.

결론 : CA-125는 난소암에서 중요한 예후인자라는 것은 이미 알려진 사실이다. 우리의 연구에 의하면 비배수성 종양이거나 합성기 분율이 높을 때 예후가 불량함을 예측할 수 있다. 그러므로 난소암으로 진단받은 환자에서 유세포분석법을 통해 DNA 정량검사를 시행하여 배수성 및 합성기 분율을 측정하는 것은 예후를 예측하는데 있어서 중요한 정보를 제공해 줄 것으로 사료된다.

중심단어 : DNA 유세포분석, 배수성, 합성기 분율, CA-125